



Evaluation of p53 and soluble Fas ligand (sFasL) serum level concentration as indicators of apoptosis in serum of patients with benign and malignant primary follicular thyroid tumors

Krzysztof Kołomecki¹, Piotr Maciaszczyk¹, Henryk Stępień², Jacek Cywiński¹, Justyna Cielecka¹, Tomasz Stępień³, Krzysztof Kuzdak³

¹Department of General Surgery in MI&A Hospital, Lodz

²Department of Endocrinology; Medical University, Lodz

³Clinic of General and Endocrine Surgery; Medical University, Lodz

Abstract

Introduction: Apoptosis (programmed cell death) is the best described mode of physiological cell death. During embryonal development and morphogenesis, apoptosis may be induced by two pathways. The first is external protein signal originating from other cell — also named as “death signal”. Another one is specific cell reaction for external stress factors. Blood concentration of proteins regulating both pathways of apoptosis may be useful in early diagnosis and staging of thyroid tumors. The aim of study was evaluation of p53 and sFasL blood concentration in patients with benign follicular adenoma and follicular thyroid cancer.

Materials and methods: The study population was composed of 28 patients: 14 with thyroid carcinoma and 14 patients with follicular neoplasm (NF). All patients underwent surgical treatment. P53 and sFasL levels were evaluated before surgery and related to the histopathological diagnosis obtained post-surgery.

Results: The analysis revealed high sFasL blood concentration in patients with follicular thyroid cancer in comparison with the group with follicular adenoma. There was no statistically significant difference between levels of p53 in both groups.

Conclusions: Evaluation of sFasL serum level concentration may be useful in preoperative diagnosis of follicular thyroid tumors.

(*Pol J Endocrinol* 2006; 4 (57): 320–325)

Key words: apoptosis, p53, sFasL, follicular thyroid cancer



Piotr Maciaszczyk, M.D., Ph.D.

Department of General Surgery in MI&A Hospital, Lodz

Północna 42, 91-425 Łódź

phone: 602 176 181

e-mail: piotr.maciaszczyk@wp.pl



Ocena stężenia białka p53 oraz rozpuszczalnej formy liganda sFasL jako wskaźników procesu apoptozy w surowicy u chorych z łagodnymi i złośliwymi pierwotnymi nowotworami pęcherzykowymi tarczycy

Krzysztof Kołomecki¹, Piotr Maciaszczyk¹, Henryk Stępień², Jacek Cywiński¹, Justyna Cielecka¹, Tomasz Stępień³, Krzysztof Kuzdak³

¹Oddział Chirurgii Ogólnej Szpitala MSWiA, Łódź

²Katedra Endokrynologii UM, Łódź

³Klinika Chirurgii Ogólnej i Endokrynologicznej Uniwersytetu Medycznego, Łódź

Streszczenie

Wstęp: Apoptoza, nazywana programowaną śmiercią komórki, jest najlepiej opisaną postacią fizjologicznej śmierci komórki. W trakcie rozwoju i morfogenezy komórki może przebiegać dwoma szlakami. Pierwszy z nich to zainicjowanie śmierci komórki przez zewnętrzny sygnał natury białkowej pochodzący od innej komórki, tak zwany „sygnał śmierci”, drugi to swoista reakcja komórki na stres środowiskowy. Ocena stężeń białek w płynach ustrojowych, uczestniczących w obu wymienionych szlakach procesu apoptozy, może być przydatna we wczesnej diagnostyce guzów pęcherzykowych tarczycy oraz ocenie stopnia ich zaawansowania. Rak pęcherzykowy tarczycy należy do nowotworów, które przysparzają wiele problemów w przedoperacyjnej diagnostyce cytologicznej. Rozpoznanie przedoperacyjne dokonane na podstawie badania klinicznego, badań dodatkowych, obrazowych i biopsyjnych często nie znajduje potwierdzenia w pooperacyjnym badaniu histopatologicznym. Celem pracy jest ocena stężeń białka p53 oraz rozpuszczalnej formy liganda FasL (sFasL) we krwi obwodowej u chorych z łagodnym gruczolakiem pęcherzykowym oraz rakiem pęcherzykowym tarczycy.

Materiał i metody: Badaniem objęto 28 chorych: 14 chorych z rozpoznaniem rakiem tarczycy i 14 chorych z rozpoznaniem nowotworem pęcherzykowym (NF, *neoplasma fol-*

liculare). Wszystkich chorych leczono operacyjnie. Badane czynniki oznaczano przed zabiegiem operacyjnym i porównywano z wynikiem pooperacyjnego badania histopatologicznego.

Wyniki: Na podstawie analizy uzyskanych wyników wykazano występowanie wysokiego stężenia sFasL u chorych z rakiem pęcherzykowym tarczycy w stosunku do grupy z gruczolakiem pęcherzykowym. Nie stwierdzono statystycznie istotnie wyższych wartości, porównując stężenie białka p53 w obu grupach.

Wnioski: Oznaczanie stężenia sFasL w surowicy chorych może być przydatne w przedoperacyjnej diagnostyce guzów pęcherzykowych tarczycy.

(*Endokrynol Pol* 2006; 4 (57): 320–325)

Słowa kluczowe: apoptoza, p53, sFasL, rak pęcherzykowy tarczycy



dr med. Piotr Maciaszczyk
Oddział Chirurgii Ogólnej Szp. MSWiA w Łodzi
ul. Północna 42, 91-425 Łódź
tel.: 602 176 181
e-mail: piotr.maciaszczyk@wp.pl

Wstęp

Mimo zauważalnego postępu w rozpoznawaniu raków tarczycy, ciągle aktualnym problemem jest brak metod umożliwiających postawienie pewnej diagnozy przedoperacyjnej. Szczególne problemy diagnostyczne wśród raków tarczycy przysparza jego postać pęcherzykowa. Częstość zmian złośliwych w guzkach pęcherzykowych tarczycy określa się na około 6–28% [1]. Obecnie wśród szerokiego grona badaczy istnieje zgodna opinia, że diagnoza przedoperacyjna raka pęcherzykowego tarczycy na podstawie szerokiej diagnostyki wraz z badaniem

biopsyjnym nie pozwala na pewne przedoperacyjne rozpoznanie zmiany złośliwej w guzkach pęcherzykowych. Oczywiście jest, że prawdopodobieństwo to zmniejsza się w przypadku wola wieloguzkowego. Często pooperacyjne badanie histopatologiczne nie potwierdza rozpoznania dokonanego na podstawie objawów klinicznych, badań dodatkowych, obrazowych, biochemicznych i biopsyjnych. Konsekwencją tego stanu rzeczy jest więc konieczność dalszego poszukiwania wiarygodnej przedoperacyjnej metody diagnostycznej, która mogłaby jednoznacznie określić sposób i zakres zabiegu.

Proces apoptozy będący postacią fizjologicznej śmierci komórek jest jednym z głównych mechanizmów warunkujących homeostazę ustroju. Apoptoza jest ściśle zaplanowaną kaskadą reakcji enzymatycznych, prowadzących do degradacji DNA oraz do dezintegracji struktur komórkowych [2]. Jedną z podstawowych funkcji apoptozy jest eliminacja komórek, w których uszkodzenia materiału genetycznego nie mogą być naprawione [3].

Apoptoza komórek może przebiegać dwoma szlakami: za pośrednictwem sygnałów natury białkowej — „sygnałów śmierci”, pochodzących od innych komórek, lub w wyniku reakcji na działanie czynników stresu (niedotlenowanie komórek, uszkodzenia DNA, aktywacja onkogenów) [4–6]. Różne rodzaje sygnałów aktywują enzymy należące do grupy enzymów proteolitycznych, tak zwanych kaspaz [7, 8].

„Białkowe sygnały śmierci” są odbierane przez komórki za pośrednictwem swoistych receptorów. Dobrze poznane receptory „sygnałów śmierci” należą do rodziny receptorów czynnika martwicy nowotworów (TNF, *tumor necrosis factor*). Do tej grupy zalicza się receptor Fas, który, wiążąc swoisty ligand FasL (CD95L), aktywuje kolejno kaspazy 8, 3, 6, 7, doprowadzając komórkę do śmierci na drodze apoptozy [3].

Ekspresja receptora Fas w komórkach prawidłowych występuje na limfocytach T i B oraz w większości tkanek i narządów, między innymi w nabłonku jelitowym, hepatocytach, śledzionie, sercu, prostaty, nerkach i jajnikach. Ligand FasL występuje na limfocytach T oraz komórkach „naturalnych zabójcach” (NK, *natural killer*) [9].

Kolejnym krokiem w poznawaniu roli FasL w procesie apoptozy komórek nowotworowych stały się badania jego formy niezwiązanej z błoną komórkową, formy rozpuszczalnej sFasL [10, 11]. Coraz więcej doniesień naukowych opisuje jego podwyższone stężenie w surowicy osób z nowotworami złośliwymi, w związku z czym podejmuje się próby oznaczania stężenia sFasL jako wskaźnika progresji nowotworowej.

Apoptoza może być również zapoczątkowana w komórkach różnymi czynnikami stresu [12]. Reakcja komórki przebiega wówczas z udziałem białka p53. Białko to ulega tak zwanej modyfikacji potranslacyjnej, co prowadzi do uruchomienia transkrypcji wielu genów kodujących inne białka, w tym kluczowego dla procesu apoptozy białka Bax [3].

W obu opisanych powyżej szlakach, w skutek działania szlaku enzymatycznego kaspaz, następuje dyspersja jądra komórki, a ostatecznie jej rozpad na tak zwane ciała apoptotyczne, fagocytowane przez komórki żerne [3, 13].

Cel i założenia

Wykazywana istotna rola sFasL oraz białka p53 w zainicjowaniu i przebiegu procesu apoptozy wielu guzów nowotworowych oraz ciągły brak odpowiedzi na pytanie, czy białka te mogą znaleźć zastosowanie jako wskaźnik zagrożenia rozwojem nowotworu, skłoniły autorów niniejszej pracy do podjęcia badań nad oceną ich stężeń w surowicy krwi u chorych z łagodnymi i złośliwymi pierwotnymi nowotworami pęcherzykowymi tarczycy.

Celem pracy były:

- ocena stężenia sFasL oraz p53 w surowicy u chorych z łagodnymi i złośliwymi pierwotnymi nowotworami pęcherzykowymi tarczycy, z uwzględnieniem rozpoznania BACC oraz rozpoznania histopatologicznego nowotworu;
- ocena przydatności uzyskanych wartości stężeń badanych parametrów w różnicowej diagnostyce przedoperacyjnej łagodnych i złośliwych nowotworów pęcherzykowych tarczycy.

Materiał i metody

Badaniem objęto 28 chorych (21 kobiet i 7 mężczyzn, śr. wieku: 52 lata). Chorych operowano w dwóch ośrodkach: na Oddziale Chirurgii Ogólnej Szpitala MSWiA w Łodzi oraz w Klinice Chirurgii Endokrynologicznej i Ogólnej UW w Łodzi w latach 2000–2004 z powodu łagodnych i złośliwych guzów tarczycy, niewykazujących nadczynności hormonalnej. Na przeprowadzenie badania uzyskano zgodę Komisji Bioetyki Uniwersytetu Medycznego w Łodzi/nr RNN/148/04/KE z 18.05.2004 roku.

Pierwsza badana grupa składała się z 10 chorych, u których na podstawie wyników biopsji aspiracyjnej celowanej cienkoigłowej podejrzewano, a na podstawie badania histopatologicznego rozpoznano, raka pęcherzykowego tarczycy. Do drugiej grupy natomiast zakwalifikowało się 4 chorych, u których na podstawie wyniku badania biopsji określono zmianę jako gruczolaka pęcherzykowego (NF, *neoplasma folliculare*), zaś pooperacyjny wynik histopatologiczny zmienił rozpoznanie na raka pęcherzykowego. Grupę trzecią stanowili chorzy, u których zarówno w badaniu cytologicznym przedoperacyjnym, jak i pooperacyjnym histopatologicznym, dokonano rozpoznania *neoplasma folliculare*. Wszystkie badane osoby zakwalifikowano do 3 grup, co przedstawiono w tabeli I.

Krew do badań pobierano próżniową metodą bezkontaktową, po wyrażeniu świadomej pisemnej zgody przez pacjenta, przed planowanym zabiegiem

Tabela I

Liczba chorych w poszczególnych grupach z uwzględnieniem rozpoznania BACC i histopatologicznego

Table I

Division into subgroups in selection to the tine needle biopsy diagnosis and histopathological evaluation

Grupa	Liczba chorych	Rozpoznanie BACC i histopatologiczne
I	10	Rak pęcherzykowy tarczycy (RPT) podejrzewany już na podstawie BACC
II	4	Guz pęcherzykowy tarczycy (NF) w BACC; rozpoznanie zweryfikowane po badaniu histopatologicznym na RPT
III	14	Guz pęcherzykowy (NF), gruczolak pęcherzykowy tarczycy po badaniu histopatologicznym

RPT, rak pęcherzykowy tarczycy; BACC, biopsja aspiracyjna cienkoigłowa celowana; NF (*neoplasma folliculare*) — nowotwór pęcherzykowy

operacyjnym. Oznaczano stężenia sFasL oraz p53 w surowicy. Oznaczeń dokonano metodą immunoenzymatyczną ELISA przy użyciu powszechnie dostępnych zestawów firmy Bender Medsystems.

Do statystycznego porównania wyników miary średniej (mediany) wybrano nieparametryczny test U Manna-Whitneya. Wybór ten uzasadniono małymi próbkami, które implikowały niemożność weryfikacji pochodzenia wszystkich prób z populacji o rozkładzie normalnym. W obu rodzajach badań statystycznych przyjęto współczynnik istotności na poziomie p mniejszy niż 0,05.

Wyniki

Średnie stężenie sFasL w grupie pierwszej, a więc u chorych, u których w badaniu cytologicznym biopłatu podejrzewano, a w pooperacyjnym badaniu histopatologicznym rozpoznano, raka pęcherzykowego tarczycy, wyniosło $0,34 \pm 0,1$ ng/ml. Średnie stężenie tego białka w grupie drugiej, gdzie rozpoznanie NF dokonane na podstawie badania cytologicznego biopłatu zweryfikowano ostatecznie w badaniu histopatologicznym i określono jako rak pęcherzykowy, wyniosło $0,27 \pm 0,1$ ng/ml.

Średnie stężenie sFasL w surowicy osób z ostatecznie rozpoznanymi rakami tarczycy (tj. w grupie pierwszej i drugiej łącznie) wyniosło $0,3 \pm 0,1$ ng/ml. Natomiast średnie stężenie sFasL w grupie trzeciej z przedoperacyjnie i pooperacyjnie rozpoznaną zmianą NF wyniosło $0,1 \pm 0,05$ ng/ml.

W porównaniu wartości średnich stężeń sFasL u chorych z grupy pierwszej ($0,34 \pm 0,1$ vs. $0,1 \pm 0,05$ ng/ml; $p = 0,002$), a następnie grupy drugiej ($0,27 \pm 0,1$ vs. $0,1 \pm 0,05$ ng/ml; $p = 0,001$), w stosunku do grupy chorych z grupy trzeciej, wykazano statystycznie wyższe wartości w obu grupach z rozpoznanymi ostatecznie rakami tarczycy w stosunku do grupy chorych ze zmianami łagodnymi rozpoznanymi zarówno w badaniu

cytologicznym biopłatu, jak i w badaniu histopatologicznym. W porównaniu wartości średnich stężeń sFasL w surowicy krwi chorych z rakami pęcherzykowymi z grup pierwszej i drugiej, traktowanych łącznie, z chorymi z łagodnymi gruczolakami pęcherzykowymi, tj. z grupy trzeciej, wykazano statystycznie istotnie wyższe średnie stężenie sFasL ($0,3 \pm 0,1$ vs. $0,1 \pm 0,05$ ng/ml; $p = 0,001$) w grupie chorych z rakami pęcherzykowymi tarczycy. Natomiast w porównaniu wartości średnich stężeń sFasL u chorych z grupy pierwszej z chorymi z grupy drugiej ($0,34 \pm 0,1$ vs. $0,27 \pm 0,1$ ng/ml; $p = 0,06$) nie wykazano różnic istotnych statystycznie.

Średnie stężenie białka p53 w grupie pierwszej wyniosło $18 \pm 12,4$ U/ml., w grupie drugiej zaś — $14 \pm 11,2$ U/ml. Średnie stężenie p53 w surowicy osób z ostatecznie rozpoznanymi rakami tarczycy (w grupach pierwszej i drugiej łącznie) wyniosło $16 \pm 12,4$ U/ml. Średnie stężenie p53 w grupie trzeciej z przedoperacyjnie i pooperacyjnie rozpoznaną zmianą NF wyniosło $8,2 \pm 1,15$ U/ml.

W porównaniu wartości średnich stężeń p53 w surowicy krwi chorych z rakami pęcherzykowymi, tj. z grup pierwszej i drugiej, traktowanych łącznie, z chorymi z łagodnymi gruczolakami pęcherzykowymi, tj. z grupy trzeciej, nie wykazano statystycznie istotnych różnic w średnim stężeniu p53 ($16 \pm 12,4$ vs. $8,2 \pm 1,15$ U/ml; $p = 0,14$).

W porównaniu wartości średnich stężeń p53 u chorych z grupy pierwszej ($18 \pm 12,4$ vs. $8,2 \pm 1,15$ U/ml; $p = 0,16$), a następnie grupy drugiej ($14 \pm 11,2$ vs. $8,2 \pm 1,15$ U/ml; $p = 0,14$) z grupą chorych z grupy trzeciej nie wykazano statystycznie wyższych wartości w obu grupach w stosunku do grupy chorych ze zmianami łagodnymi rozpoznanymi zarówno w badaniu cytologicznym biopłatu, jak i w badaniu histopatologicznym. W porównaniu wartości średnich stężeń p53 u chorych z grupy pierwszej z chorymi z grupy drugiej ($18 \pm 12,4$ vs. $14 \pm 11,2$ U/ml; $p = 0,07$) także nie wykazano różnic istotnych statystycznie.

Dyskusja

W procesie karcynogenezy bardzo istotny jest proces apoptozy [14]. W prowadzonych na całym świecie badaniach dotyczących apoptozy coraz częściej podkreśla się jej kluczową rolę w regulacji naturalnego przebiegu nowotworu. Jak we wszystkich nowotworach ustroju ludzkiego, tak i w nowotworach tarczycy decydujący wpływ na przebieg procesu chorobowego oraz wybór właściwego leczenia operacyjnego ma trafnie postawiona diagnoza przedoperacyjna określająca postać histopatologiczną zmiany. Badania przedoperacyjne i śródoperacyjne pozwalają na trafne rozpoznanie 60–70% nowotworów złośliwych tarczycy. Pozostałe diagnozy stawia się dopiero na podstawie pooperacyjnego badania histopatologicznego [15].

W 1966 roku udokumentowano ekspresję FasL na większości komórek nowotworowych o charakterze przerzutowym w raku jelita grubego [16], w czerniakach [17], rakach wątroby [18, 19]. Stworzono wówczas teorię, zakładającą że nowotwory, dzięki silnej ekspresji FasL na swoich komórkach, mają tak zwany status „uprzywilejowania immunologicznego”. Według tej teorii komórki nowotworowe są zdolne do skutecznego atakowania komórek układu immunologicznego gospodarza, a to pozwala na rozwój guza i tworzenie zmian o charakterze przerzutowym.

Prowadzone badania dowiodły, że poziom ekspresji FasL koreluje dodatnio z gorszym rokowaniem klinicznym nowotworu. W większości badanych guzów stwierdzono także podwyższone stężenia sFasL.

Szeroko dyskutowany jest problem funkcji sFasL. Początkowo przypisywano mu funkcje FasL błonowego, chociaż o mniejszej sile oddziaływania. Dzisiaj część badaczy twierdzi, że czynna funkcjonalnie jest tylko forma błonowa sFasL [20]. Zaobserwowano jednak, że sFasL może częściowo znosić efekt działania FasL błonowego, a nawet doprowadzać do śmierci komórki wykazującej nadekspresję receptora Fas [21–23].

Próby oznaczania w surowicy stężenia FasL jako wskaźnika progresji nowotworowej czyni się rzadko. Podwyższone stężenia sFasL odnotowano w różnych chorobach wątroby takich jak: piorunujące zapalenie wątroby, marskość poalkoholowa, pierwotne nowotwory wątroby [24–26] oraz w chorobach zapalnych nerek [27], u chorych z nowotworami złośliwymi pęcherza moczowego [10], w rakach układu płciowego kobiet [21], raku piersi i jelita grubego, czerniaku, mięsaku, chłoniakach i białaczkach [11].

W 2001 roku grupa badaczy japońskich przeprowadziła próbę oceny stężenia sFasL jako wskaźnika nowotworowego u pacjentów z rakami żołądka. Stwierdzono statystycznie wyższe stężenia sFasL u osób cho-

rych w porównaniu z grupą osób zdrowych, jednak tylko w grupie mężczyzn powyżej 50. roku życia [28].

Drugim białkiem niezbędnym do przeprowadzenia procesu apoptozy komórki w odpowiedzi na szeroko rozumiany stres środowiskowy jest białko p53, będące produktem genu o tym samym oznaczeniu. Zmodyfikowane białko p53 uruchamia transkrypcję szeregu genów kodujących białka, biorących udział w rozpoczęciu i przebiegu apoptozy [29].

Gen p53 jest jednym z najlepiej opisanych zmutowanych genów w różnych ludzkich rakach: okrężnicy [30], płuc, przelyku [31], wątroby, mózgu, skóry [32]. W genie tym wykryto i opisano łącznie ponad 500 mutacji doprowadzających do przemiany nowotworowej komórek. Za niepodważalny uznaje się dziś fakt, że tylko niezmutowany gen p53 inicjuje proces apoptozy, zaś zmutowany blokuje ją [33].

W uzyskanym materiale wykazano wysokie stężenie sFasL w grupie chorych z rakami pęcherzykowymi tarczycy, których rozpoznanie nasuwało się już w badaniu cytologicznym biopsji i zostało potwierdzone w badaniu histopatologicznym oraz w grupie chorych, w której rozpoznanie pierwotnie na podstawie badania cytologicznego biopsji, określone jako NF, zwerifikowano w pooperacyjnym badaniu histopatologicznym jako rak pęcherzykowy, w stosunku do grupy chorych ze zmianami przedoperacyjnymi i pooperacyjnymi określonymi jako NF. Natomiast w przypadku oznaczenia białka p53 nie wykazano takiej zależności.

W przeprowadzonej analizie porównującej średnie stężenia białka p53, takie jak sFasL, w grupie chorych z guzami pęcherzykowymi, które już w badaniu cytologicznym biopsji wykonanym przed zabiegiem operacyjnym wykazywały pewne cechy złośliwości pozwalające podejrzewać raka, z grupą chorych z rakami pęcherzykowymi rozpoznanymi trafnie dopiero w pooperacyjnym badaniu histopatologicznym, nie wykazano statystycznie istotnych różnic między obiema grupami.

Niewielka liczba badanych nie pozwala jednak na stawianie daleko idących i kategoriycznych wniosków. Niemniej, skoro przedoperacyjne rozpoznanie raka pęcherzykowego jest niemożliwe w badaniu cytologicznym, warto zwrócić uwagę na dodatkową informację uzyskiwaną dzięki badaniu stężenia FasL. Porównanie ze sobą grup chorych z rakami pęcherzykowymi oraz z gruczolakami pęcherzykowymi ukazało zasadność określania sFasL w różnicowaniu zmian o charakterze łagodnym i złośliwym.

Wyniki autorów niniejszej pracy potwierdzają tezę, której postaci rozpuszczalnej sFasL, obok postaci błonowej, przypisuje się znaczącą rolę w inicjowaniu procesu apoptozy na drodze przekazanego sygnału śmierci. W prezentowanym badaniu uwagę zwraca fakt braku przydatności określania stężenia białka p53 jako próby

rozgraniczania zmian o charakterze łagodnym i złośliwym tarczycy, mimo potwierdzonej od lat roli p53 w inicjowaniu procesu apoptozy w formie odpowiedzi na stres środowiskowy. Wydaje się, że na podstawie przeprowadzonych już badań można stwierdzić, że ocena stężeń sFasL w surowicy może być użyteczna w przedoperacyjnym rozpoznaniu złośliwych nowotworów pęcherzykowych tarczycy.

1. Stężenie sFasL w surowicy u chorych z rakami pęcherzykowymi jest znamienne wyższe w porównaniu z grupą z łagodnymi gruczolakami pęcherzykowymi.
2. Stężenie białka p53 w surowicy u chorych z rakami pęcherzykowymi nie jest znamienne wyższe w porównaniu z grupą z łagodnymi gruczolakami pęcherzykowymi.

Piśmiennictwo

1. Lange D, Sporny S, Sygut J i wsp. Kryteria różnicowania między rakiem brodawkowatym a pęcherzykowym tarczycy — pierwsze wnioski z badania wielośrodkowego. *Wiad Lek* 2001; 54 (supl. 1): 42–53.
2. Koźlak J, Duś D. Udział receptora Fas i jego liganda FasL w progresji nowotworowej? *Nowotwory J of Oncology* 2002; 52.
3. Szala S. Swoista indukcja apoptozy w komórkach nowotworowych. *Nowotwory* 2000; 50 (2): 111–121.
4. Vaux DL, Korsmeyer J. Cell death in development. *Cell* 1999; 96: 245–254.
5. Thornberry NA, Lazebnik Y. Caspases: enemies within. *Science* 1998; 281: 1312–1316.
6. Wolf BB, Green DR. Suicidal tendencies: apoptotic cell death by caspase family proteases. *J Biol Chem* 1999; 274: 20 049–20 052.
7. Podack ER. How to induce involuntary suicide: the need for dipeptidyl peptidase I. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 8812–8814.
8. Ashkenazi A, Dixit VM. Death receptors: signaling and modulation. *Science* 1998; 281: 1305–1308.
9. Daniel PT, Wieder T, Sturm I i wsp. The kiss of death: promises and failures of death receptors and ligands in cancer therapy. *Leukemia* 2001; 15: 1022–1032.
10. Midis GP, Shen Y, Owe-Schaub LB. Elevated soluble Fas (sFas) levels in nonhematopoietic malignancy. *Cancer Res* 1 in non-hematopoietic malignancy. *Cancer Res* 1996; 56: 3870–3874.
11. Tanaka M, Toshimitsu L, Adachi M i wsp. Downregulation of Fas ligand by shedding. *Nature Med* 1998; 4: 31–36.
12. Evan G, Littlewood T. A matter of life and cell death. *Science* 1998; 94: 695–698.
13. Bennett M, MacDonald K, Chan SW i wsp. Cell surface trafficking of Fas: a rapid mechanism of p53-mediated apoptosis. *Science* 1998; 282: 290–293.
14. Green DR. Apoptotic pathways: the roads to ruin. *Cell* 1998; 281: 695–698.
15. Rybiński K, Narębski J, Pomorski L. Współczesne leczenie chirurgiczne raka tarczycy. *Endokrynol Pol.* 1999; 50 (supl. 2 do z. 4): 63–72.
16. O'Connell J, O'Sullivan GC, Collins JK i wsp. The Fas counterattack: Fas-mediated T cell killing by colon cancer cells expressing Fas ligand. *J Exp Med* 1996; 184 (3): 1075–1082.
17. Hahne M, Rimoldi D, Schroter M i wsp. Melanoma cell expression of Fas (Apo-1/CD95) ligand: implications for tumor immune escape. *Science* 1996; 274: 1363–1366.
18. Strand S, Hofmann WJ, Hug H i wsp. Lymphocyte apoptosis induced by CD95 (APO-1/Fas) ligand-expressing tumor cells — a mechanism of immune evasion? *Nature Med* 1996; 2: 1361–1366.
19. Higaki K, Yano H, Kojiro M. Fas antigen expression and its relationship with apoptosis in human hepatocellular carcinoma and noncancerous tissues. *Am J Pathol* 1996; 149: 429–437.
20. Hohlbaum AM, Moes S, Rothstein AM. Opposing effects of transmembrane and soluble Fas ligand expression on inflammation and tumor cell survival. *J Exp Med* 2000; 191: 1209–1220.
21. Konno R, Takano T, Sato S i wsp. Serum soluble Fas level as a prognostic factor in patients with gynecological malignancies. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 3576–3580.
22. Shudo K, Kinoshita K, Imamura R i wsp. The membrane — bound but not the soluble form of human Fas ligand is responsible for its inflammatory activity. *Eur J Immunol* 2001; 31: 2504–2511.
23. Hosaka N, Oyaizu N, Kaplan MH i wsp. Membrane and soluble forms of Fas (CD95) and Fas ligand in peripheral blood mononuclear cells and in plasma from human immunodeficiency virus-infected persons. *J Infect Dis* 1998; 178 (4): 1030–1039.
24. Nakamoto Y, Kaneko S, Buttner SW i wsp. Inhibition of peripheral blood lymphocyte apoptosis by soluble fas ligand in patients with hepatocellular carcinoma. *Oncol Rep* 1999; 6 (4): 733–739.
25. Taieb J, Mathurin P, Poynard T i wsp. Raised plasma soluble Fas and Fas-ligand in alcoholic liver disease. *Lancet* 1998; 351 (9120): 1930–1931.
26. Shiota G, Oyama K, Noguchi N i wsp. Clinical significance of serum soluble Fas ligand in patients with acute self-limited and fulminant hepatitis. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1998; 101 (1): 3–12.
27. Sano H, Asano K, Minatoguchi S i wsp. Plasma soluble fas and soluble fas ligand in chronic glomerulonephritis. *Nephron* 1998; 80 (2): 153–161.
28. Ichikura T, Majima T, Uchida T i wsp. Plasma soluble ligand concentration: decrease in elderly men and increase in patients with gastric carcinoma. *Oncol Rep* 2001; 8: 311–314.
29. Schmitt CA, Lowe SW. Apoptosis and therapy. *J Pathol* 1999; 187: 127–137.
30. Mulder JW, Wielenga VJ, Pals ST i wsp. p53 and CD4 as clinical markers of tumours progression in colorectal carcinogenesis. *Histochem J* 1997; 29 (6): 439–452.
31. Khan S, Do KA, Kuhnert P i wsp. Diagnostic value of p53 immunohistochemistry in Barrett's esophagus: an endoscopic study. *Pathology* 1998; 30 (2): 136–140.
32. Harris CC. P53: at the crossroads of molecular carcinogenesis and molecular epidemiology. *J Invest Dermatol Symp Proc* 1996; 1 (2): 115–118.
33. Gorczyca W, Melamed MR, Darzynkiewicz Z. Programowana śmierć komórek (apoptoza). *Pat Pol* 1993; 44 (3): 113–119.